

张霞,高进,郭琪,等. 棉花纤维长度近等基因系 R01-40-08 的背景遗传效应分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):85-87.

# 棉花纤维长度近等基因系 R01-40-08 的背景遗传效应分析

张霞<sup>1,2</sup>, 高进<sup>2</sup>, 郭琪<sup>2</sup>, 徐鹏<sup>2</sup>, 张香桂<sup>2</sup>, 沈新莲<sup>2</sup>

(1. 南京农业大学, 江苏南京 210095; 2. 江苏省农业科学院经济作物研究所/农业部长江下游棉花油菜重点实验室, 江苏南京 210014)

**摘要:**从海岛棉 Pima S-6 中鉴定了一个 1 号染色体上稳定表达的纤维长度 QTL(qFL-chr1), 针对这一目标 QTL, 通过标记辅助选择得到近等基因系 R01-40-08。近等性分析结果表明, 该近等基因系其他 7 条染色体上仍含有 Pima S-6 的渐渗片段。以 Tamcot 2111(轮回亲本)与 R01-40-08(供体亲本)构建了 1 个含有 1 672 个单株的 F<sub>2</sub> 群体, 分析了其他染色体上 Pima S-6 渐渗片段对纤维长度的遗传效应, 单标记分析结果表明, 位于 14 号染色体上的 2 个标记(NAU2190 和 NAU5465)对纤维长度有显著的影响。

**关键词:**纤维长度; 渐渗系; 近等基因系

**中图分类号:** S562.032 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0085-03

棉花是世界上重要的纤维作物, 纤维品质是评价棉花品种的重要指标之一。纤维长度、纤维强度等重要品质指标与棉花产量及产量构成因素存在显著的负相关关系<sup>[1-5]</sup>, 这些

收稿日期: 2014-04-16

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31171595); 江苏省农业科技自主创新资金(编号: CX(12)5039]。

作者简介: 张霞(1988—), 女, 山东莒县人, 硕士研究生, 主要从事棉花分子育种研究。Tel: (025) 84390291; E-mail: zxia\_1988@163.com。

通信作者: 沈新莲, 博士, 研究员, 主要从事棉花分子育种研究。Tel: (025) 84390291; E-mail: xlshen68@126.com。

因素制约了棉纤维品质的遗传改良。分子标记技术的发展为研究纤维品质的遗传和改良提供了一条新途径, 迄今为止, 国内外学者利用不同的优质纤维材料筛选并鉴定了 100 多个与纤维长度相关的数量性状位点<sup>[6]</sup>。目前, 这些研究所用的群体都为 F<sub>2</sub>、BC<sub>1</sub> 和重组自交系群体, 群体遗传背景较复杂, 存在如 QTL 间的互作与 QTL 与环境的互作, 导致所估计的 QTL 的效应与位置的精确性有限。由这些群体获得的 QTL 的分辨率通常在 10~30 cM 之间<sup>[7-8]</sup>。在这样大的区间内, 可能存在多个连锁的 QTL, 无法分解紧密连锁的负相关性状 QTL, 影响标记辅助选择的效率以及对分子机理的研究。

近年来, 近等基因系被广泛用于植物数量性状 QTL 的精

## 3 结论

甘蔗生长期较长, 需肥量较大, 在肥料施入土壤后, 存在养分的淋失、挥发及土壤固定等损失, 养分的损失增加了农业生产成本, 加重了环境负荷<sup>[10]</sup>。而施用生物有机甘蔗专用肥能使作物得到特定肥效, 在容量上生物有机甘蔗专用肥仅为常规肥的 1/5, 体现了减少肥料运输成本和劳动力费用的优势, 而且施用效果远超过进口复合肥和常规肥<sup>[11]</sup>。本试验表明, 在旱地甘蔗生产上施用生物有机甘蔗专用肥, 对加速旱地甘蔗生长发育、提高产量及改善品质、降低成本和提高肥料的经济效益均具有一定作用<sup>[5]</sup>。它不仅能提高农业生产效益, 而且对保护土壤环境, 保肥、保水、恢复土壤活力等均具较好的综合生态环境效应<sup>[4]</sup>。以上仅是一年试验结果, 其他诸如肥料后效及对土壤理化性状的影响等还有待今后进一步研究探明<sup>[12-13]</sup>。

## 参考文献:

- [1] 谢金兰, 陈引芝, 朱秋珍, 等. 氮肥施用量与施用方法对甘蔗生长的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(31): 237-242.
- [2] 江永, 敖俊华, 卢颖林, 等. 湛江市甘蔗“3414”肥料效应试验[J]. 广东农业科学, 2011, 38(19): 69-72.

- [3] 陈迪文, 卢颖林, 江永, 等. 功能性生物有机肥在甘蔗生产上的应用[J]. 甘蔗糖业, 2012(4): 23-26.
- [4] 罗贵荣. 新型矿物肥料在甘蔗上的应用试验[J]. 江苏农业科学, 2010(4): 92-93.
- [5] 张业海. 甘蔗的肥料效应定位研究[J]. 土壤通报, 1993, 24(5): 222-224.
- [6] 江泽普, 李端富, 谭裕模, 等. 施用不同复合肥对甘蔗产量与品质的影响研究[J]. 广西农业科学, 2010, 41(11): 1202-1204.
- [7] 谭宏伟, 刘永贤, 周柳强, 等. 基于滴灌条件下的甘蔗施肥减量技术研究[J]. 热带作物学报, 2013, 34(1): 24-28.
- [8] 何祖猛. 甘蔗施用含氯肥料的效应[J]. 湖南农业科学, 2000(6): 16-18.
- [9] 谭芳, 黎焕光, 谭裕模, 等. 特早熟、特高糖甘蔗新品种桂糖 35 号的选育[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(4): 104-107.
- [10] 游奕来, 甘道建, 周柏权, 等. 控释肥料在甘蔗生产上的应用效果研究[J]. 广东农业科学, 2008(6): 18-19.
- [11] 张宁珍, 陈美球, 谢建春, 等. BB 肥对甘蔗经济性性状、产量及糖分含量的影响[J]. 江西农业大学学报, 1999, 21(2): 121-124.
- [12] 黄忠兴. 甘蔗施用有机复混肥料研究初报[J]. 甘蔗糖业, 2002(3): 6-9.
- [13] 庞天, 梁子洪, 王伦旺. PGPR 复混肥料对旱地甘蔗的施用效应[J]. 广西农业科学, 2008, 39(4): 504-506.

细定位研究中<sup>[9-11]</sup>,因为近等基因系只含有供体的 1 个至几个渐渗片段,性状的复杂性被降低到类似于由单基因控制的性状,可以更精确地估计 QTL 的效应、研究 QTL 之间的互作及 QTL 与环境的互作,在目标 QTL 区域形成的重叠渐渗系可以促进数量性状基因的精细作图,降低连锁累赘程度,最终完成 QTL 图位克隆。除了目标染色体区域外,近等基因系通常含有一定数量的供体染色体片段,这些遗传背景对目标 QTL 的效应具有影响,影响目标 QTL 的精细定位及遗传效应估计。

在前期研究中,美国佐治亚大学通过回交高代 QTL 作图方法,从海岛棉 Pima S-6 中筛选、鉴定了 1 个 1 号染色体上的纤维长度 QTL(*qFL- chr1*),该 QTL 解释的表型变异较高(12%~24%),而且在多个群体中均能检测到<sup>[12]</sup>。针对这一目标 QTL,江苏省农业科学院与美国佐治亚大学通过标记辅助选择共同培育了近等基因系 R01-40-08,该近等基因系在美国、中国南京的多年多点试验中纤维长度均显著高于轮回亲本 Tamcot 2111<sup>[13]</sup>。本研究以 Tamcot 2111 与 R01-40-08 为亲本构建了 1 个 F<sub>2</sub> 群体,分析了其他染色体上 Pima S-6 渐渗位点对纤维长度的遗传效应,以期构建高遗传相似度的纤维长度单 QTL 近等基因系,为后期纤维长度 QTL 图位克隆提供重要的材料基础。

1 材料与方法

1.1 材料

江苏省农业科学院与美国佐治亚大学通过标记辅助选择共同培育了 1 个增效基因来源于海岛棉 Pima S-6 的纤维长度 QTL 单片段渐渗系 R01-40-08。

1.2 群体构建

2008 年,将 R01-40-08 种植在江苏省农业科学院溧水植物试验基地,以 Tamcot 2111 为母本与 R01-40-08 供体亲本杂交获 F<sub>1</sub>;同年冬季将 F<sub>1</sub> 种植在海南试验基地,自交得 F<sub>2</sub>;2009 年将 F<sub>2</sub> 群体(共 1 672 个单株)种植在江苏省农业科学院溧水植物科学试验基地,收获重组个体单株籽棉,棉样送交农业部纤维检测实验室检测纤维品质。2010 年重组个体家系种植在江苏省农业科学院溧水植物科学试验基地,重复 2 次,按家系收获籽棉,棉样送交农业部纤维检测实验室检测纤维长度(FL)。纤维长度由 HVI900 纤维品质测试仪检测。

1.3 SSR 分析

DNA 采用改进的 CTAB 法提取<sup>[14]</sup>。引物参照 Guo 等发表的遗传图谱选择<sup>[15-16]</sup>。SSR 参照文献[17]分析。

1.4 单标记分析

根据分子标记结果将数据分组,利用方差相同的 *t* 测验检验组间平均数的差异,确定标记与性状的连锁关系<sup>[18]</sup>。把性状与标记的回归方程中的决定系数作为标记能够解释性状的效应<sup>[19]</sup>。

2 结果与分析

2.1 近等基因系 R01-40-08 的近等性分析

为了分析近等基因系 R01-40-08 与轮回亲本的遗传相似度,根据已发表的 2 个棉花遗传连锁图谱<sup>[15-16]</sup>,选择 534 个分布于棉花整个基因组的 SSR 引物分析渐渗系 R01-

40-08 与供体亲本 Pima S-6 和轮回亲本 Tamcot 2111 之间的多态性。结果表明,供体亲本 Pima S-6 和轮回亲本 Tamcot 2111 呈现多态性的引物有 413 个,其中 R01-40-08 和轮回亲本 Tamcot 2111 之间呈现多态性的引物 23 个。其中 1 号染色体 11 个(BNL2921、JESPR240、NAU422、MUSS84、MUSS422、CIR018、JESPR56、NAU2182、TMD03 以及 BNL3090 和 STS 引物(STS38)1 对、2 号染色体 1 个(NAU2858)、3 号染色体 2 个(NAU1167 和 NAU5445)、14 号染色体 3 个(NAU2190、NAU3820、NAU5465)、15 号染色体 1 个(NAU2573)、19 号染色体 3 个(NAU3110、NAU1221、NAU1042)、20 号染色体 1 个(NAU3407)、23 号染色体 1 个(NAU3732)。遗传背景相似性估计 =  $N/S \times 100\%$ ,式中:*N* 表示 R01-40-08 和轮回亲本 Tamcot 2111 之间为单态的标记数,*S* 表示供体亲本 Pima S-6 和轮回亲本 Tamcot 2111 之间呈现多态性的引物总数( $390/413 = 94.43\%$ ),因此渐渗系含有轮回亲本 Tamcot 2111 的 94.43% 基因组。

前期研究中在回交高代 QTL 分析中发现,除了 1 号染色体外,14、15、20、23 号染色体上也存在纤维长度 QTL<sup>[12]</sup>。基于 RFLP 和 SSR 的遗传图谱<sup>[20]</sup>和 SSR 标记的遗传图谱<sup>[15]</sup>中的桥梁标记,由此推断 14、15、23 号染色体上的 Pima S-6 遗传位点与纤维长度 QTL 连锁较紧密,可能这些位点对纤维长度 QTL 依然存在遗传效应。

2.2 Pima S-6 背景遗传位点对纤维长度的影响

为了进一步证实 Pima S-6 遗传背景对纤维长度的影响,本研究以 Tamcot 2111 为母本与 R01-40-08 供体亲本构建了 1 个含有 1 672 个单株的 F<sub>2</sub> 群体。根据目标 QTL 区间分子标记基因型的筛选,共鉴定了 432 个重组个体,用上述 12 对位于非目标 QTL 区间上的引物对 F<sub>2</sub> 群体的重组个体进行基因型鉴定并进行单标记分析,根据基因型鉴定结果,对单标记带型含有 Pima S-6 片段与不含有 Pima S-6 片段进行方差分析。对 2009 年 F<sub>2</sub> 群体背景标记对纤维长度单标记分析结果,遗传背景中 Pima S-6 位点对纤维长度影响不显著;对 2010 年 F<sub>3</sub> 群体单标记分析结果,14 号染色体上的 2 个标记 NAU2190 和 NAU5465 对纤维长度有显著的影响(表 1)。15、23 号上的 Pima S-6 遗传位点对纤维长度没有影响,可能在回交的过程中 Pima S-6 遗传位点与纤维长度 QTL 已发生重组,不存在连锁关系。

表 1 Pima S-6 遗传背景单标记方差分析					
标记	染色体	贡献率(%)		P 值	
		2009 年	2010 年	2009 年	2010 年
NAU1167	Chr. 3	3.6	5.4	0.87	0.20
NAU3820	Chr. 14	2.2	1.9	0.63	0.48
NAU5465	Chr. 14	0	0.3	0.24	0.022
NAU2190	Chr. 14	0.2	1.8	0.11	0.005
NAU1221	Chr. 19	6.8	3.5	0.89	0.22
NAU3110	Chr. 19	1.4	3.7	0.16	0.31
NAU3407	Chr. 20	1.9	0	0.64	0.16
NAU3732	Chr. 23	1.7	0.1	0.63	0.81

3 结论与讨论

随着 QTL 定位技术在各种作物中的广泛应用,借助分子

连锁图谱进行 QTL 分析以及对目标 QTL 构建近等基因系,通过构建 NIL 群体来进行 QTL 的精确定位,可以使复杂的数量性状也能像孟德尔因子一样进行分析,进而通过图位克隆来获得数量性状位点基因,最大限度挖掘有利基因位。近等基因系可通过连续多次回交法<sup>[21]</sup>、从突变体中分离获得<sup>[22]</sup>和杂交高世代群体中分离选育<sup>[23]</sup>等方法。利用分子标记辅助选择结合连续回交选育法是获得近等基因系最有效的手段。在回交过程中,除了目标性状基因转移外,尽快恢复轮回亲本的基因组是构建近等基因系的关键。除了目标染色体区域外,近等基因系通常含有一定数量的供体染色体片段,这些遗传背景对目标 QTL 效应产生影响,从而影响目标 QTL 的精细定位及遗传效应的估计。

本研究中的近等基因系 R01-40-08 是通过回交高代 QTL 作图方法并结合分子标记辅助选择创造获得的。Yamamoto 等曾使用经典的高世代回交方法获得近等基因系并精细定位和克隆了水稻抽穗期 QTL<sup>[24-25]</sup>。尽管该方法获得近等基因系耗时较长,但由于近等基因系与轮回亲本背景高度相似,所以极适合微效 QTL 遗传效应的估计。近等性分析表明,R01-40-08 已含有轮回亲本 94.43% 的基因组,背景中仍含有少量 Pima S-6 渐渗位点。在对棉花 1 号染色体上纤维长度 QTL 精细定位的基础上,继续选择在目标 QTL 区间含有较小渐渗片段的重组个体,与轮回亲本回交,并结合前景与背景分子标记辅助选择以及表型鉴定,可以获得遗传背景与轮回亲本高度相似的单 QTL 近等基因系。这些纤维长度单 QTL 近等基因系的获得为数量性状位点图位克隆和基于单个数量性状位点下纤维发育的分子机制研究创造重要的材料。

#### 参考文献:

- [1] 潘家驹. 棉花育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1998.
- [2] Miller P A, Williams J C, Robinson H F, et al. Estimate of genotypic and environmental variances and covariances in upland cotton and their implication in selection[J]. Agronomy Journal, 1958, 50: 126-131.
- [3] Miller P A, Rawlings J O. Breakup of initial linkage blocks through intermating in a cotton breeding population[J]. Crop Science, 1967, 7: 199-204.
- [4] Meredith W R, Bridge R R. Break up of linkage blocks in cotton, *Gossypium hirsutum* L. [J]. Crop Science, 1971, 11: 695-698.
- [5] May O L. Genetic variation for fiber quality[M]//Basra A S. Cotton fibers - developmental biology, quality improvement, and textile processing. New York: Food Products Press, 1999: 183-229.
- [6] Chee P W, Campbell B T. Bridging classical and molecular genetics of cotton fiber quality and development[J]. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models, 2009, 3: 283-311.
- [7] Paterson A H, Saranga Y, Menz M, et al. QTL analysis of genotype × environment interactions affecting cotton fiber quality[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(3): 384-396.
- [8] Shen X L, Guo W Z, Lu Q X, et al. Genetic mapping of quantitative trait loci for fiber quality and yield trait by RIL approach in upland cotton[J]. Euphytica, 2007, 155(3): 371-380.
- [9] Xie X B, Song M H, Jin F X, et al. Fine mapping of a grain weight quantitative trait locus on rice chromosome 8 using near-isogenic lines derived from a cross between *Oryza sativa* and *Oryza rufipogon* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 113(5): 885-894.
- [10] Shan J X, Zhu M Z, Shi M, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of *spd6*, responsible for small panicle and dwarfness in wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 119(5): 827-836.
- [11] Zhou L, Zeng Y W, Zheng W W, et al. Fine mapping a QTL *qCTB7* for cold tolerance at the booting stage on rice chromosome 7 using a near-isogenic line[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 121(5): 895-905.
- [12] Chee P, Draye X, Jiang C X, et al. Molecular dissection of interspecific variation between *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense* (cotton) by a backcross-self approach: III. Fiber length[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111: 772-781.
- [13] Shen X L, Cao Z B, Singh R, et al. Efficacy of *qFL-chr1*, a quantitative trait locus for fiber length in cotton (*Gossypium* spp.) [J]. Crop Science, 2011, 51(5): 2005-2010.
- [14] Paterson A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1993, 11: 122-127.
- [15] Guo W Z, Cai C P, Wang C B, et al. A microsatellite-based, gene-rich linkage map reveals genome structure, function and evolution in *Gossypium* [J]. Genetics, 2007, 176: 527-541.
- [16] Xiao J, Wu K, Fang D D, et al. New SSR markers for use in cotton (*Gossypium* spp.) improvement[J]. Journal of Cotton Science, 2009, 13: 75-157.
- [17] Zhang J, Wu Y T, Guo W Z, et al. Fast screening of SSR markers in cotton with PAGE/Silver staining[J]. Cotton Sci Sin, 2000, 12: 267-269.
- [18] 王慧, 喻德跃, 吴巧娟, 等. 大豆对斜纹夜蛾抗生性基因的卫星标记(SSR)的研究[J]. 大豆科学, 2004, 23(2): 91-95.
- [19] 徐吉臣, 邹亮星. 利用相关性分析鉴定与水稻根部性状表达相关的分子标记[J]. 遗传学报, 2002, 29(3): 245-249.
- [20] Rong J K, Abbey C, Bowers J E, et al. A 3347-locus genetic recombination map of sequence-tagged sites reveals features of genome organization, transmission and evolution of cotton (*Gossypium*) [J]. Genetics, 2004, 166(1): 389-417.
- [21] 刘立峰, 张洪亮, 穆平, 等. 水、旱稻根粗、千粒重主效 QTL 近等基因系的构建及鉴定[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(3): 469-476.
- [22] 章清杞, 黄荣华, 张书标, 等. 长穗颈不育系协青早 eA(1) 的选育[J]. 福建农业大学学报, 2000, 29(4): 411-415.
- [23] Muehlbauer G J, Specht J E, Thomas-Compton M A, et al. Near-isogenic lines - a potential resource in the integration of conventional and linkage maps[J]. Crop Science, 1988, 28(2): 729-735.
- [24] Yamamoto T, Kuboki Y, Lin S Y, et al. Fine mapping of quantitative trait loci *Hd-1*, *Hd-2* and *Hd-3*, controlling heading date of rice, as single Mendelian factors[J]. Theoretische und Angewandte Genetik, 1998, 97(1/2): 37-44.
- [25] Takahashi Y, Shomura A, Sasaki T, et al. Hd6, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the alpha subunit of protein kinase CK2[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(14): 7922-7927.